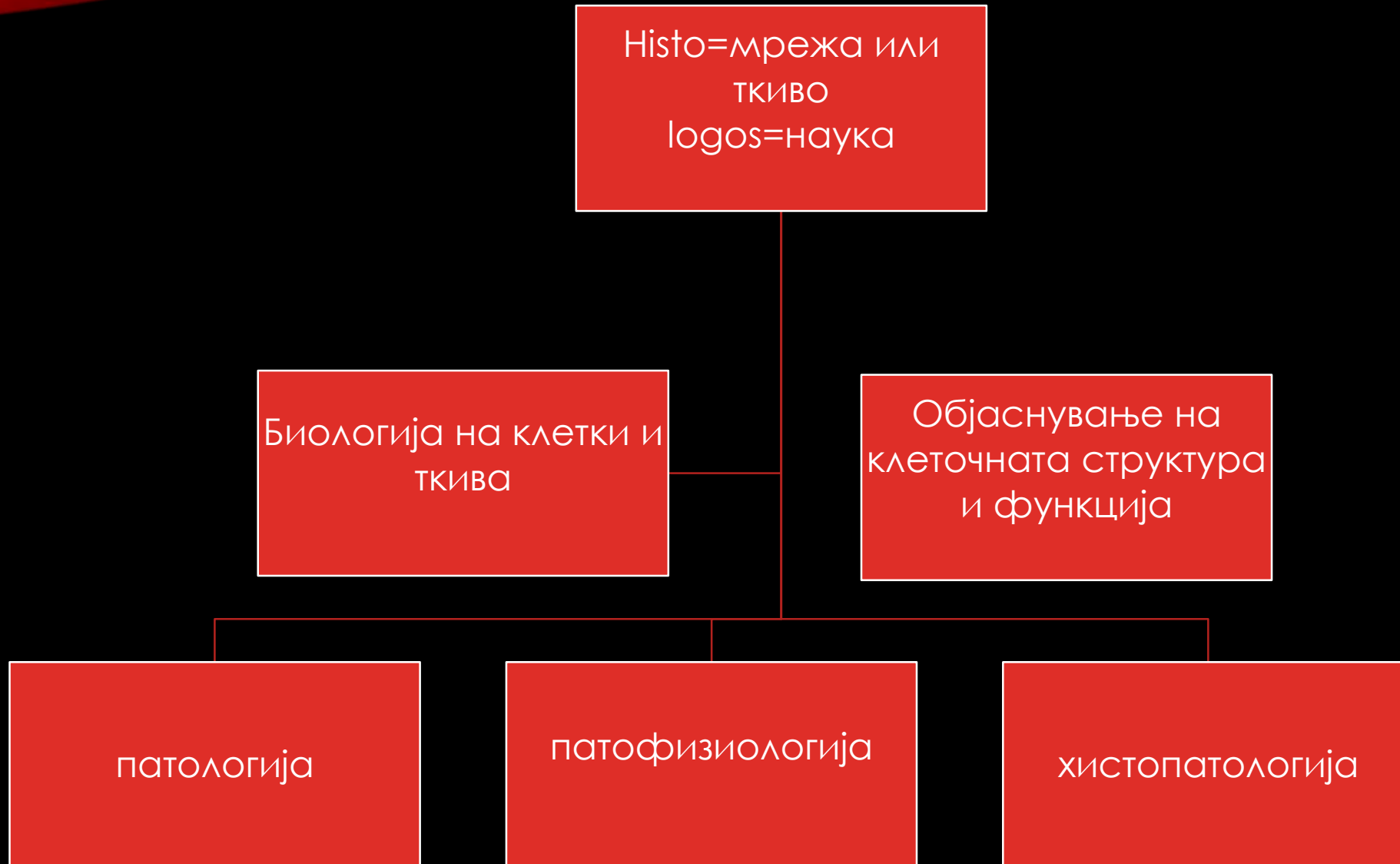




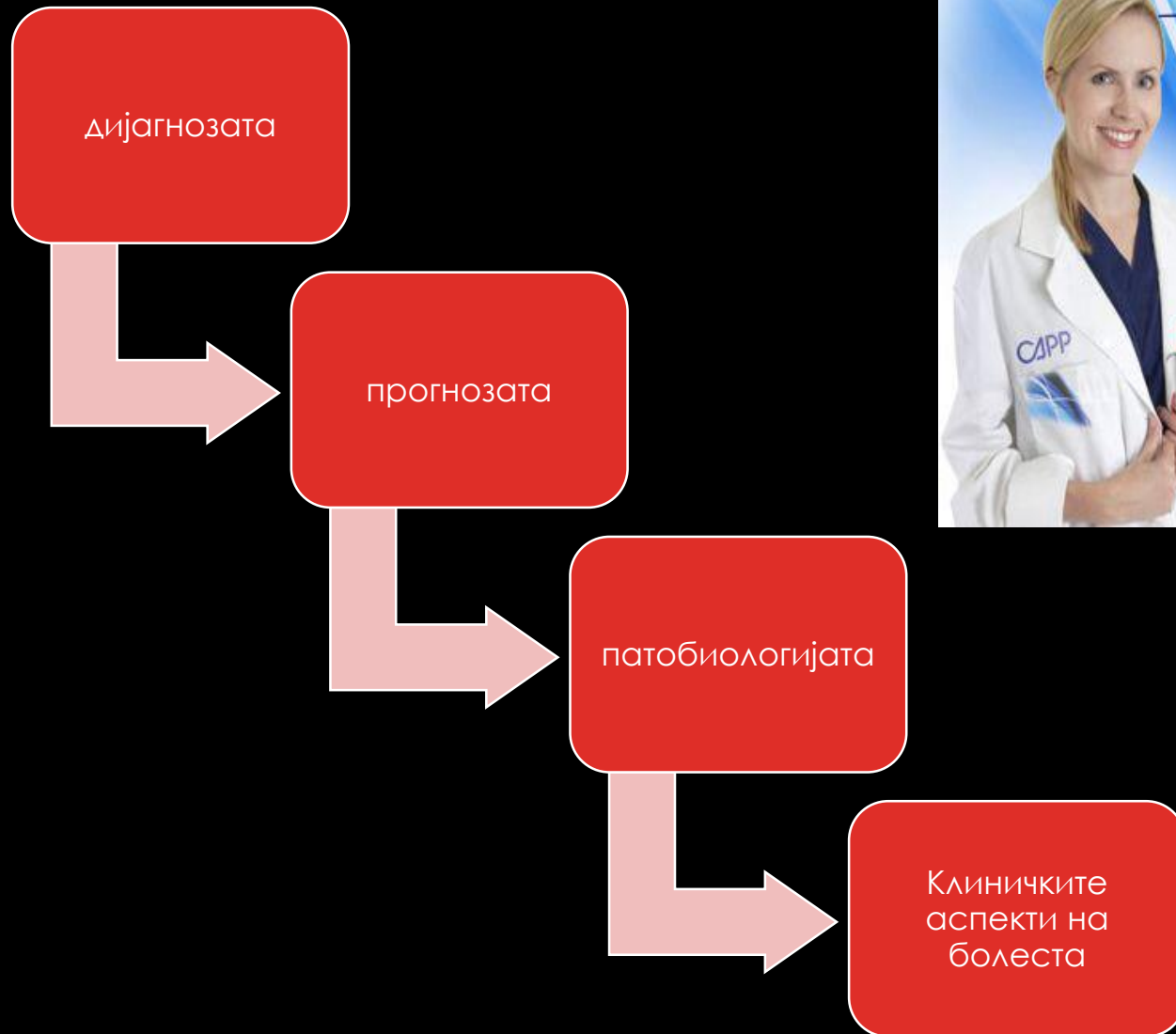
ХИСТОЛОШКИ МЕТОДИ И ТЕХНИКИ, АРТЕФАКТИ И ДИСТОРЗИИ И ПРИ ТКИВНО ПРОЦЕСУИРАЊЕ

Доцент д-р Невенка Величкова
Факултет за медицински науки

ЗНАЧЕЊЕ НА ХИСТОЛОГИЈАТА



ХИСТОЛОШКИ ИНФОРМАЦИИ ТЕМЕЛ НА:

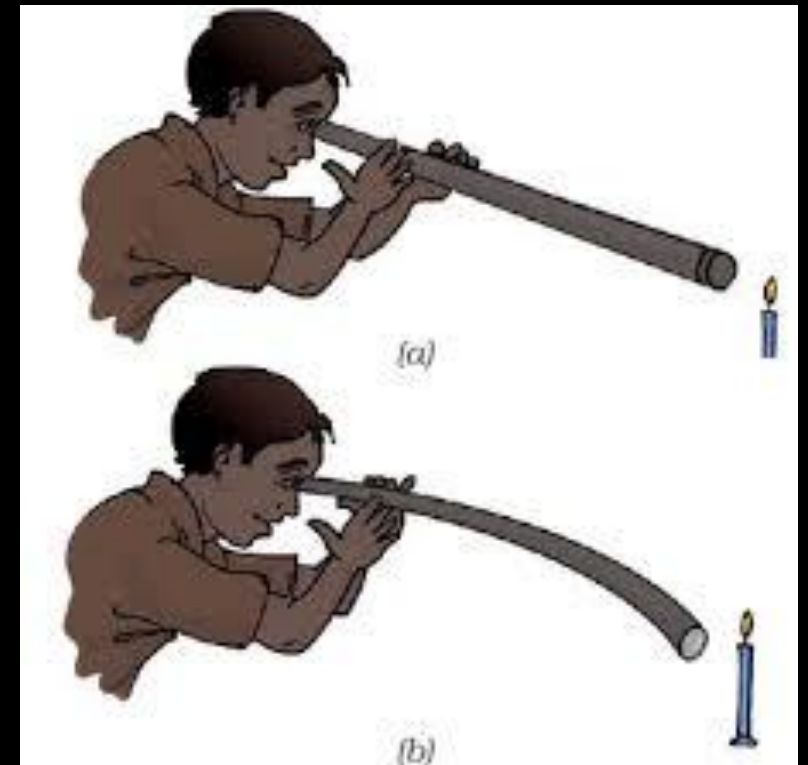


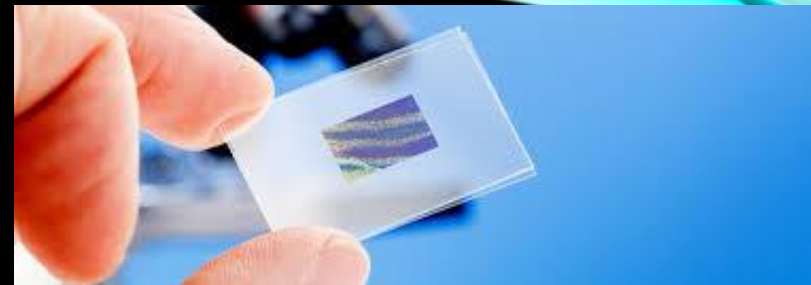
ТКИВНО ПРОЦЕСУИРАЊЕ

Мала

Големина на клеточни
компоненти

Потребна
Микроскопија
(ткивни
пресеци)





ФИКСАЦИЈА

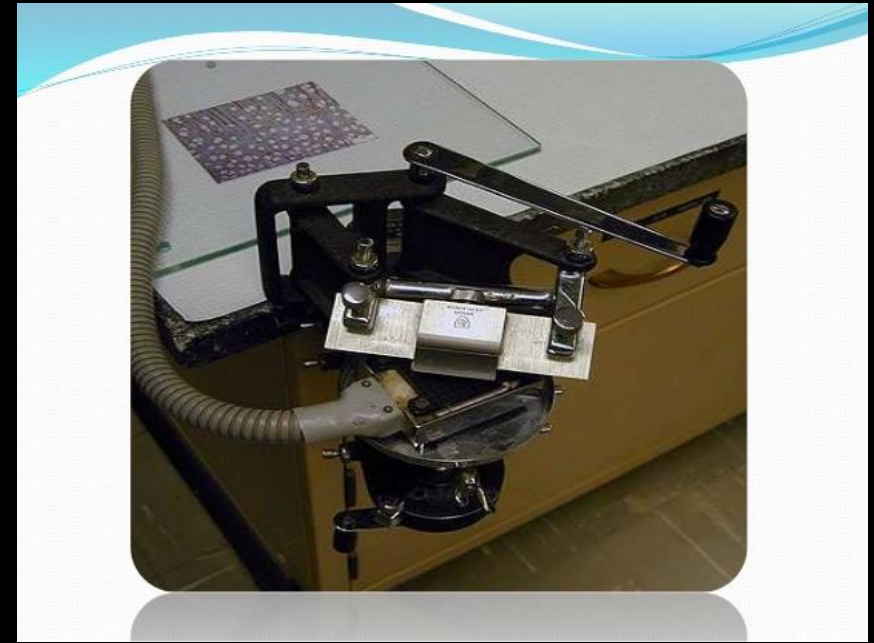
- да се избегне тивката дигестија од страна на ензимите
- прекинување на клеточниот метаболизам
- спречување на ензимска деградација на клетките и ткивата со автолиза (самоуништување)
- убивање на патогени микроорганизми како бактерии, габи или вируси
- Да се зачува структурата и молекуларниот состав
- хемиската фиксација/раствори на стабилизирачки и напречно-поврзувачки агенси или фиксативи
- Интраваскуларна перфузија
- пуферираниот изотоничен раствор на 4% формалдехил/глутаралдехид
- реагира со amino групите (NH_2) на ткивните протеини
- Ултраструктурни проучувања/секундарна фиксација со осмиум тетраоксид/ги презервира и бои липидите и протеините

ВГРАДУВАЊЕ

- Вградувачки супстанции – ригидна коегзистенција на ткивото
- Парафин – светлосна микроскопија
- пластична смола – светлосна и електронска микроскопија
- Дехидратација и прочистување
- Серија на алкохоли (70% - 100% алкохол)
- При парафинско вградување – р-рачот е ксиленот
- Провидност (прочистување)
- Ткивото се става во течен парафин во печка на $T=60^{\circ}$
- Цврстите блокови се носат до микротомот

ВИДОВИ МИКРОТОМИ

Type of Microtome	Type of Sample	Sample Cut Thickness	Application
Saw microtome	Hard and brittle material	> 30 μ m.	Samples such as bone and teeth
Sled microtome	Embedded samples	1 – 60 μ m	Samples sliced at an angle
Rotary microtome	Embedded samples	0.5 μ m - 60 μ m	Thin samples. Manual control
Vibrating microtome	Difficult/soft, Fresh/fixed samples	Fixed >10 μ m Fresh > 30 μ m	Less pressure and sample disruption
Laser microtome	All samples	>1 μ m	No sample contact and no sample prep
Cryomicrotomes	Frozen samples		Very specific thickness
Ultramicrotomes		TEM 40-100nm SBFSEM 30-50nm	Extremely thin cuts for analysis with specialty microscopes



- Пресеците пловат во вода или се целосно замрзнати
- Фиксација со замрзнување (физички а не хемиски)
- **Криостат/замрзнување за неколку минути**
- **хируршки процедури, хистохемиско проучување на чувствителни ензими, проучување на ткивни липиди**



CRYOSTAT



Обојување

```
graph TD; A[Обојување] --> B[Базофилни ткива]; A --> C[Ацидофилни ткива]; B --> D[хематоксилин]; B --> E[Толуидин сино]; B --> F[Метилен сино]; C --> G[оранж]; C --> H[Кисел фусцин]; C --> I[Еозин];
```

Базофилни
ткива

хематоксилин

Толуидин
сино

Метилен сино

Ацидофилни ткива

оранж

Кисел фусцин

Еозин

парафинот мора да се отстрани повторно со ксилол или толуол, и пресеците потоа мора да се рехидрираат со серија алкохолни раствори со опаѓачка концентрација

Боене

примерокот се поминува низ ксилол или толуол до безводна состојба и се покрива со покривно стакленце

H&E



H



E



ДРУГИ ВИДОВИ БОЕЊА

PAS - метода



Малориево
обојување

КОЛАГЕН

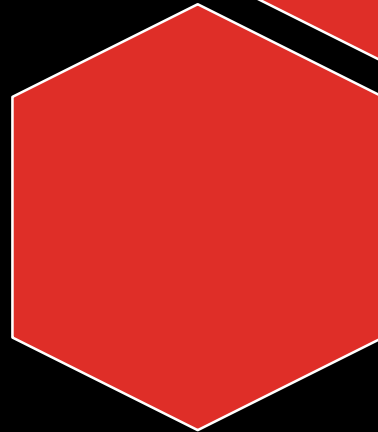
Перлсонова
реакција



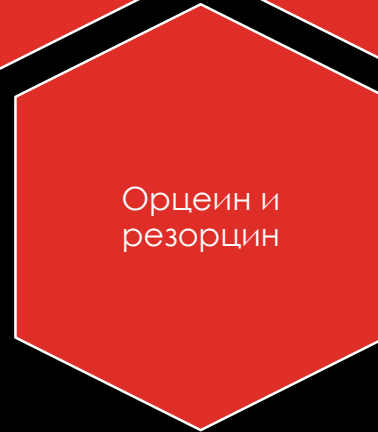
Импрегнација
со сребро
Со сребро и
злато

Нервен систем

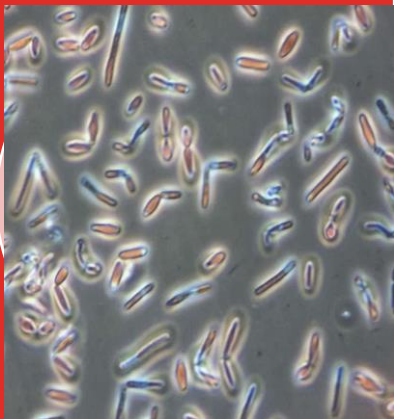
Фолгенова
реакција



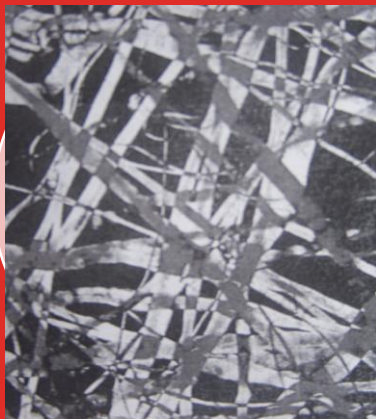
Орцеин и
резорцин



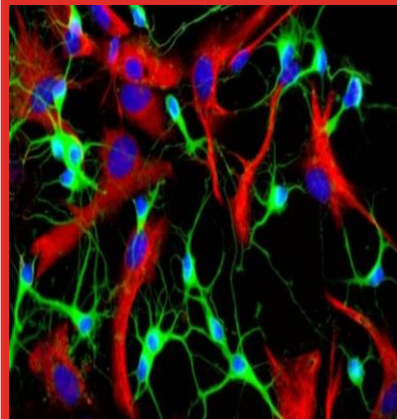
Малориева
техника



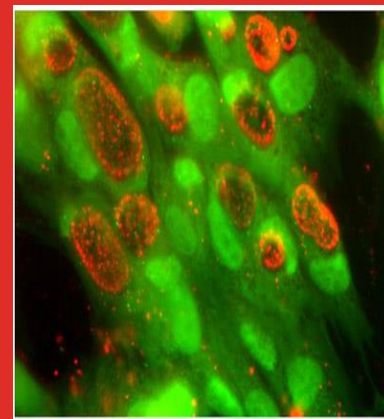
**Фазно
контрасна
микроскопија**



**Поларизирачка
микроскопија**



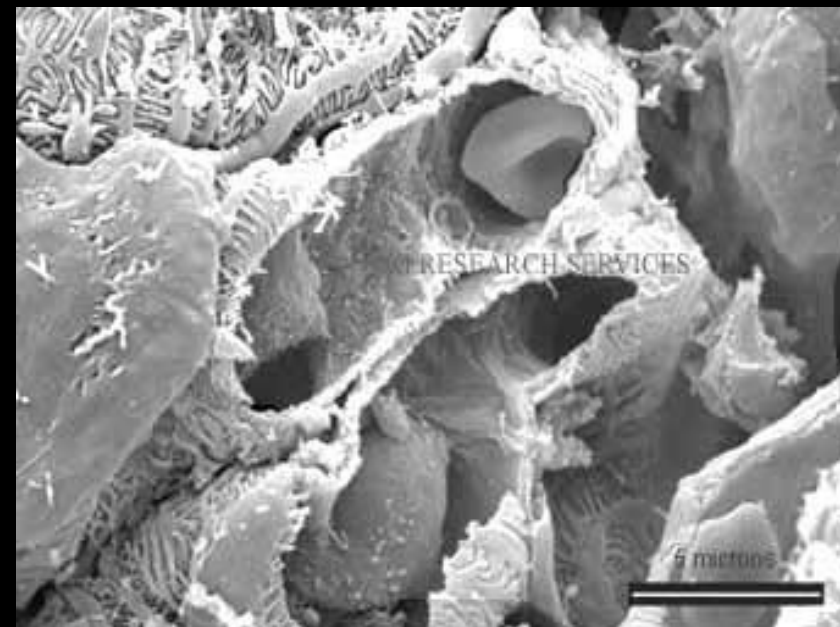
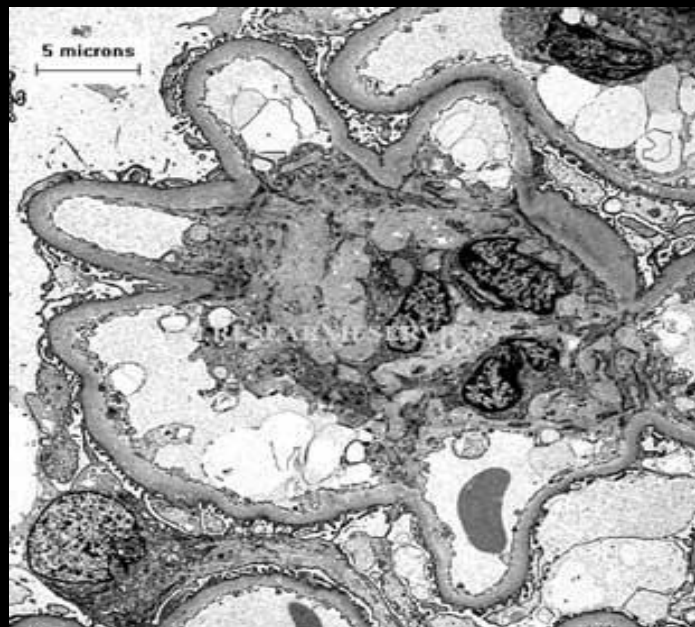
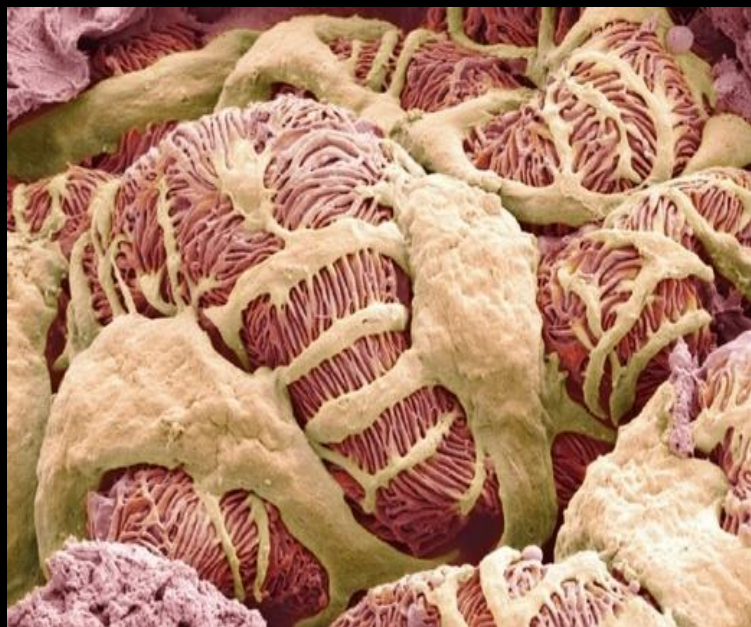
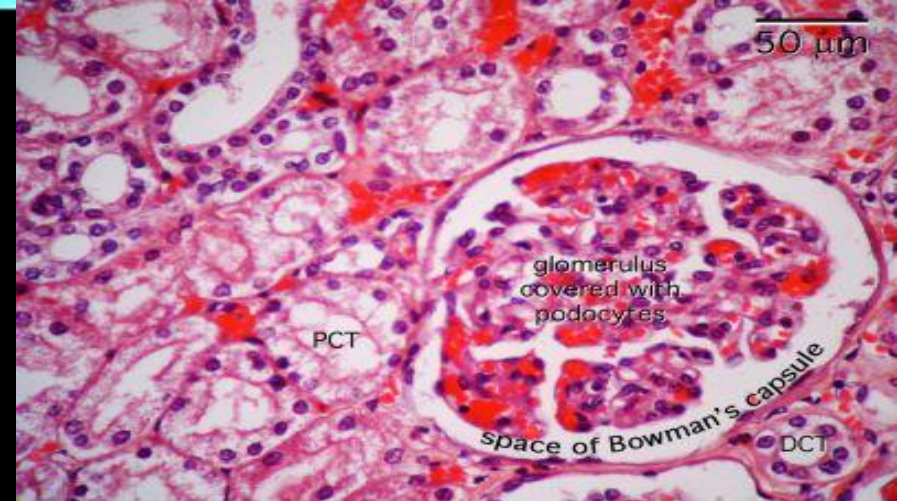
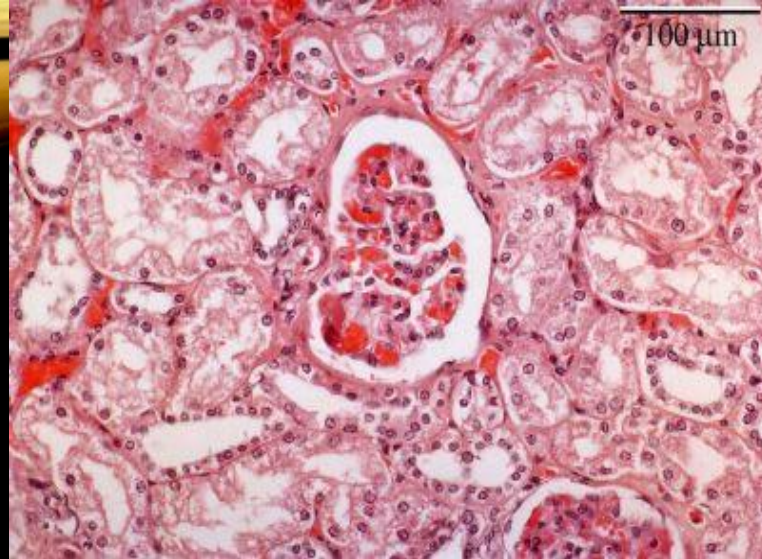
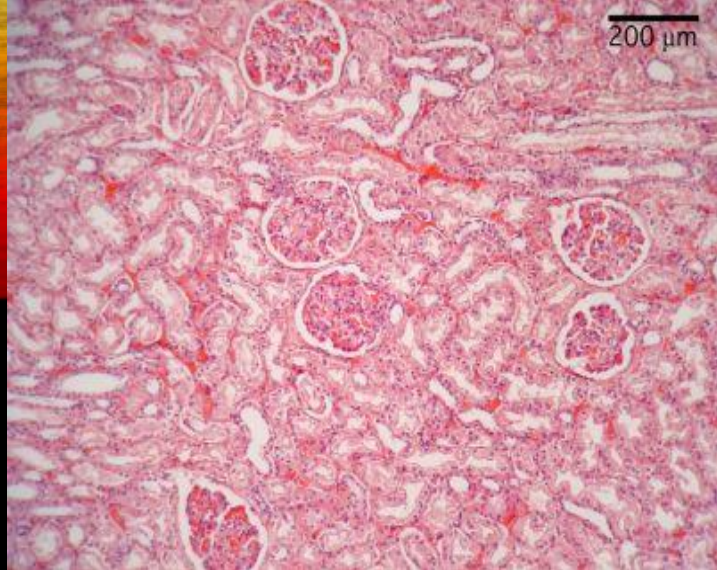
**Конфокална
микроскопија**

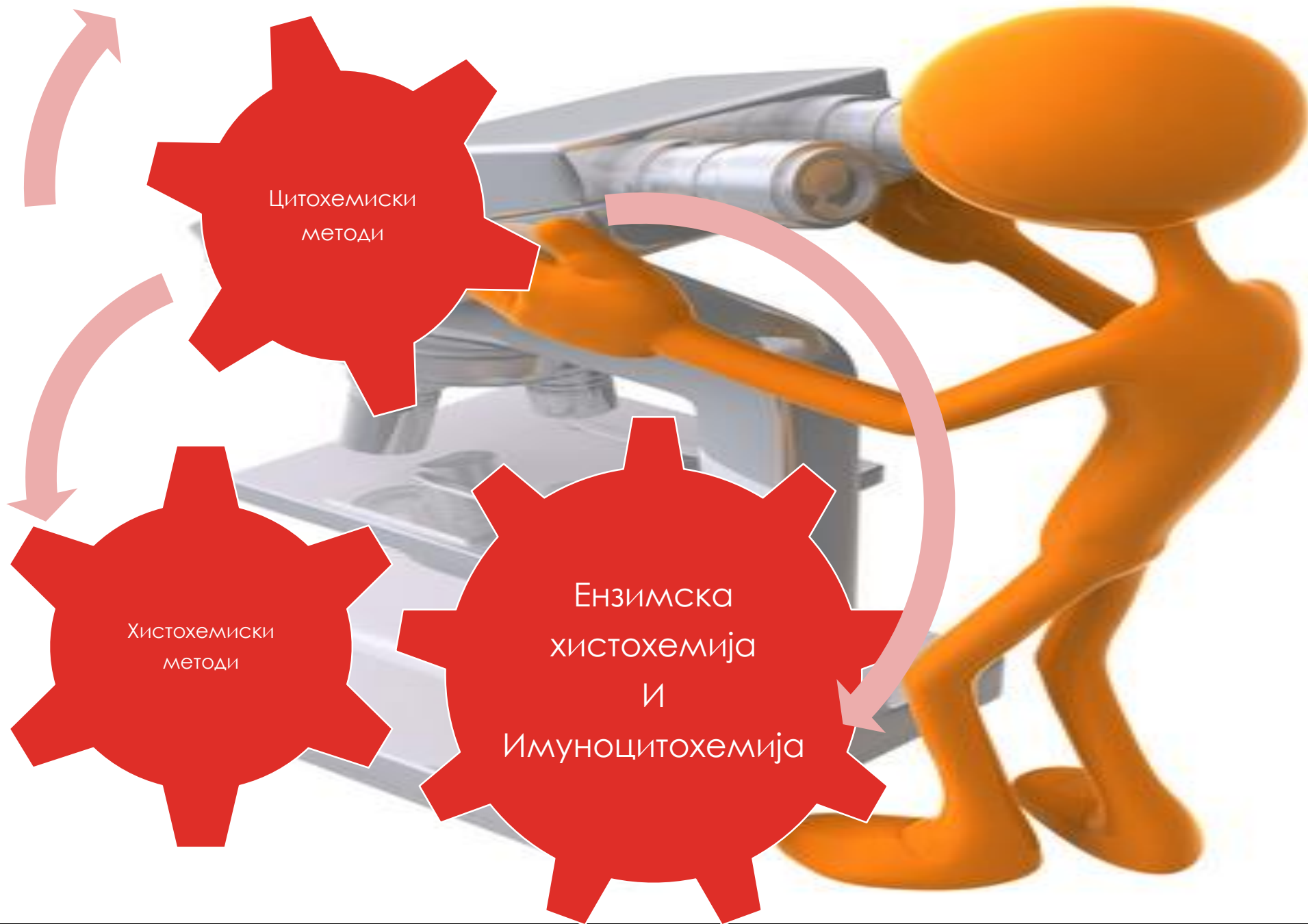


**Флуоресцентна
микроскопија**







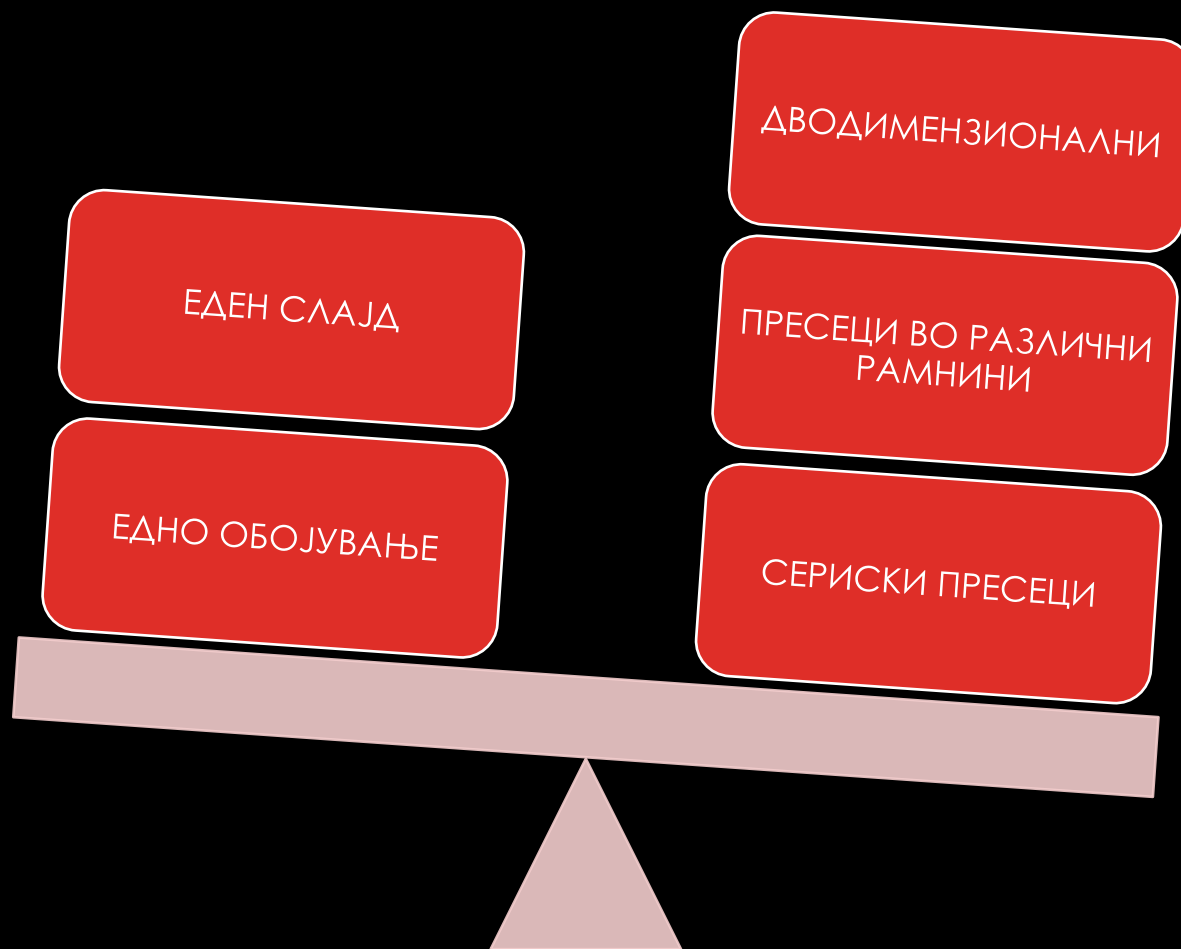


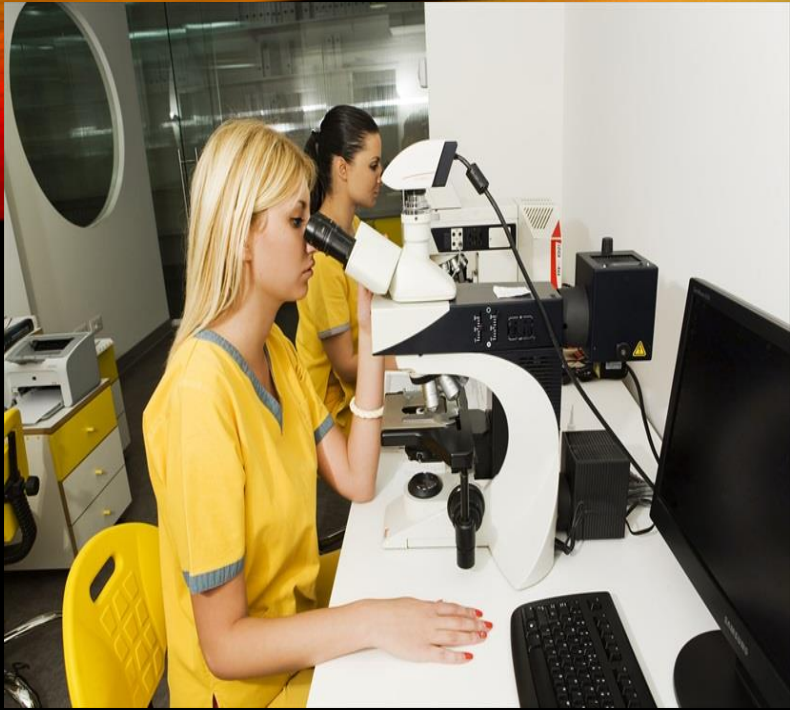
- Намалената чистота на хемикалиите и реагенсите (фиксативи и бои)
- несовршенства во изведувањето на методологијата (многу кратки или долги временски интервали на фиксација, боење, дехидрирање и поврзување
 - несоодветна опрема (микротом со дефектен нож)

Сите вештачки простори и други дисторзии кои се предизвикани од процедурата за ткивна препарација се наречени артефакти. Во останатите артефакти можат да се вклучат и **брчки на пресекот** (слични на крвни капилари), **преципитати на бои** (слични со цитоплазматски гранули) и многу други

ПРИЧИНИ ЗА ДИСТОРЗИЈА И АРТЕФАКТИ

- намалувањето кое е предизвикано од фиксативот, од етанолот и од топлината која е потреба за вградувањето на парафин
- намалувањето отсуствува со смола за вградување во примероците
- појавата на вештачки простори помеѓу клетките и останатите ткивни компоненти
- загуба на молекули кои не се прописно чувани во ткивата од фиксативот или кои се отстранети од дехидратациските и прочистувачките флуиди
- гликогенот и липидите често се губат за време на препарацијата на ткивото





THANK YOU!

